不同水稻品种对三化螟抗性差异的机理

方继朝1,郭慧芳1,程遐年2,杜正文1

(1. 江苏省农业科学院植物保护研究所,南京 210014; 2. 南京农业大学植物保护学院,南京 210095)

摘要:研究了不同水稻品种对三化螟 Scirpophaga incertulas 抗性差异的机理。结果表明,在汕优 63、镇稻 2 号和 92 - 109 稻株中,虫体的游离必需氨基酸含量极低 (0.422 ~ 0.875 mmol/mg),幼虫生长发育缓慢;而在 9 - 92、武育粳 3 号等稻株中,虫体的游离必需氨基酸含量高 (2.788 ~ 5.421 mmol/mg),幼虫生长快。虫体的游离必需氨基酸含量和生长发育的差异,与不同水稻品种的游离必需氨基酸含量、总必需氨基酸含量、还原糖含量和叶鞘硅化细胞密度均无明显相关。叶鞘维管束间距、鞘脊宽度及小于蚁螟头宽的叶鞘维管束间距百分率的差异,是不同水稻品种抗螟性差异的主要作用因子。

关键词: 三化螟: 生长发育: 水稻抗虫性: 维管束间距: 必需氨基酸

中图分类号: Q965 文献标识码: A 文章编号: 0454-6296(2002)01-0091-05

Mechanism of rice varietal resistance differences to the yellow stem borer, Scirpophaga incertulas

FANG Ji-Chao¹, GUO Hui-Fang¹, CHENG Xia-Nian², DU Zheng-Wen¹ (1. Institute of Plant Protection, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 2. Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The mechanism of rice varietal resistance to the yellow stem borer (YSB), Scirpophaga incertulas, was investigated and analyzed. There were significant differences among development rates and weight gain when YSB neonates fed on rice varieties with different resistant levels. The varieties Shan-you 63 (hybrid indica), Zhendao No. 2 and 92-109 (japonica) evidently inhibited the growth of YSB in comparison with other varieties tested. It was found that YSB larval performance was obviously correlated with the interval vascular bundles and the width of sheath ridge in the outer leaf sheath on primary stem of the rice tested rather than the contents of essential amino acids and reductive carbohydrate in these rice plants.

Key words: Scirpophaga incertulas; growth; rice resistance; interval between vascular bundles; free essential amino acid

1990年以来,随着水稻不断高产优质,三化螟 Scirpophaga incertulas 再度上升为水稻主要害虫(方继朝等,1998a)。方继朝等(1998b)、束兆林等(1999)测定了粳稻种质和高产品种的抗螟性,仅发现镇稻2号具有中抗性(3级);国内外未发现高抗三化螟的栽培稻品种(杨丽梅等,1985;周祖铭,1986;Chaudhary,1984;Riaz,1993)。在不同抗、感性的寄主水稻中,品种间三化螟的生长发育速率存在显著差异,且在每一个品种中三化螟的同期初孵群体均进行异步化发育(方继朝等,2001)。三化螟群体在同一品种中的异步化发育和在不同

抗、感性品种间的发育差异,可能都源于寄主水稻 对三化螟的调节作用。深入揭示这一作用机理,将 为创造性地利用抗螟性品种提供依据。本研究从寄 主水稻的诱导抗虫性、营养物质及叶鞘结构方面, 分析不同水稻品种对三化螟的抗性作用机理。

1 材料与方法

1.1 供试水稻品种

收集粳稻品种或品系及杂交籼稻汕优 63,按束 兆林等(1999)方法进行抗螟性测定,从中选取具

基金项目: "九五" 国家重点攻关项目(96-005-01-01) 和江苏省重大攻关项目(BG96513-2)

第一作者简介: 方继朝, 男, 1964 年 12 月生, 汉族, 安徽桐成人, 博士, 研究员, 从事水稻害虫及防治技术研究, E-mail: fangje@ipp.jaas.ac.cn

有不同抗、感性的 10 个水稻品种或品系,培育供 试稻株。

1.2 水稻对三化螟的诱导抗虫性测定

同期播种粳稻感螟品种 9-92 和中抗品种镇稻 2 号,各品种 10 盆,每盆 3 穴各 3 株,随机分为两组,常规管理。20 天后,将初孵蚁螟接于其中一组,每盆 10 头,接虫后 7 天调查枯心率。再将第 2 批初孵蚁螟接于各组稻株,每盆 15 头。第 2 次接虫后 7 天,剥查稻株中各龄幼虫活虫数并称重,经方差分析和 F 测验,确定不同品种及组间的差异显著性。

1.3 虫体及寄主稻株的氨基酸含量分析

同期播种粳稻品种 9-92、9325、9522、武育粳 3 号、武育粳 2 号、三百粒头、92-109、镇稻 2 号,以及杂交籼稻汕优 63 等。将 30 日龄秧苗移栽至水泥池田或盆钵,每池每品种 2 行,两端各种植 3 行保护苗。播种和移栽前清除越冬螟虫。

采集田间1代三化螟卵块,将初孵蚁螟接入移栽15天的稻株上,每茎蘖1头,每品种处理3行。接虫后7天、10天分别调查枯心率,剥查残虫数。残留虫饥饿6h,在1/10000天平上逐头称重。

取不同品种水稻中的活虫及寄主稻茎,采用磺基水杨酸法提取游离氨基酸,6 mol/L HCl 水解法提取总氨基酸。称取一定量的三化螟虫体($10 \sim 20$ mg)或稻茎($1 \sim 2$ g)匀浆,匀浆液以 $12 000 \times g$ 离心 15 min,上清液以 0.02 mol/L HCl 稀释,在日立835-50 型氨基酸自动分析仪上分析氨基酸组分及含量,层析柱 2.6 mm × 150 mm,分离树酯为 2619 F,柱温 53 °C,缓冲液流速 0.225 mL/min,茚三酮(上海试剂厂)流速 0.3 mL/min,反应温度 100 °C,标样

为18种氨基酸混合液(日本和光化学产品)。

1.4 稻株还原糖和总糖量分析

采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定稻株还原糖和总糖含量。取不同水稻品种相同部位的稻茎,以 4%磺基水杨酸研碎后匀浆或以 6 mol/L HCl 水解,匀浆液或水解液经 12 000×g 离心 15 min,上清液加酚酞指示剂,以 0.2 mol/L NaOH 调至微红后,加入 3,5-二硝基水杨酸显色剂,并于沸水浴中保温 5 min,在 751 型分光光度计上测 520 nm 处的 OD值,从标准曲线上得相应的还原糖或总糖含量。

1.5 叶鞘维管束间距及鞘脊宽度测定

切取不同品种的相同部位稻茎,于显微镜下用 测微尺测定 10 个以上主茎的外层叶鞘维管束间距 及鞘脊宽度,重复 4 次。经方差分析和 Duncan's 多 重比较,确定差异显著性。

1.6 叶鞘硅化细胞密度测定

取不同水稻品种相同部位的叶鞘,于70%乙醇中退绿,再在苯酚中煮至透明后,置于显微镜下计数不同叶鞘相同部位10个以上视野中的硅化细胞数,重复3次。经方差分析和Duncan's多重比较,确定差异显著性。

2 结果

2.1 三化螟侵害不同水稻品种的诱导抗螟性

无论是感螟品种 9-92 或抗性品种镇稻 2 号,再次受害的寄主水稻中三化螟的存活率和生长发育特征,与初次受害的寄主水稻中相比,无显著差异(表 1)。这表明,9-92 和镇稻 2 号中三化螟生长发育的差异不是由于螟害本身诱导产生的。

表 1 三化螟第 1 次侵害水稻对其再次侵害的影响*

Table 1 Performance of yellow stem borer (YSB) in once infested rice by it and checked healthy rice

| 水稻品种(系) Variety or cultivar | 预处理 Pre-treatment | 活虫率(%) Survival | 虫重(mg/头) Individual weight | 头宽(mm) Head width |
|--------------------------------|----------------------|--------------------|-------------------------------|----------------------|
| 9-92 | 螟害株 damaged | 82.2 a | 0.89 ± 0.34 a | 0.372 ± 0.027 a |
| (susceptible) | 对照株 ck | 86.7 a | 0.96 ± 0.15 a | 0.387 ± 0.022 a |
| 镇稻 2 号 Zhendao No. 2 | 螟害株 damaged | 44.4 b | 0.35 ± 0.08 b | 0.276 ± 0.048 b |
| (resistant) | 对照 株 ck | 51.1 b | $0.38 \pm 0.14 \text{ b}$ | 0.291 ± 0.057 b |

^{*} 数据后有不同字母表示差异显著 (P<0.05), 下同

Table 2 Effect of rice varieties on YSB growth and content of free essential amino acids (FEAA) in its body

0.422 c

| 水稻品种(系) Variety or cultivar | 接虫后 7 天 7 days after neonates feeding | | 接虫后 10 天 10 days after neonates feeding | |
|--------------------------------|--|---------|--|----------------------|
| | | | | |
| | 9-92 | 2.40 A | 1.647 a | 17.00 A [®] |
| 三百粒头 Sanbailitou | 3.03 A | 2.719 a | 18.00 A | 5.421 a |
| 武育粳3号 Wuyujing No.3 | | | 13.00 A | 3.965 ab |
| 武育粳2号 Wuyujing No. 2 | | | 7.00 B | 2.788 ь |
| 油优 63 Shanyou 63 | 0.33 B | 0.871 b | 1.67 C | 0.875 e |
| 镇稻 2 号 Zhendao No. 2 | 0.25 B | 0.837 b | 0.63 C | 0.738 с |
| | | | | |

表 2 水稻品种对三化螟的生长和游离必需氨基酸含量的影响

① 9 种必需氨基酸: 苏氨酸,缬氨酸,蛋氨酸,异亮氨酸,亮氨酸,苯丙氨酸,赖氨酸,组氨酸和精氨酸; 单位为: nmol/ mg (鲜重) Free essential amino acids including Thr, Val, Met, Ile, Leu, Phe, Lys, His, Arg: Unit: nmol per mg (fresh weight)

0.657 b

0.22 B

2.2 不同水稻品种对三化螟生长发育及其体内必需氨基酸含量的影响

92-109

三化螟侵害水稻 7~10 天,不同品种的稻株中的虫体鲜重和游离的必需氨基酸(FEAA)含量都有相当大的差异(表 2),三化螟在不同水稻品种中生长发育速率的差异,与虫体的 FEAA 含量密切相关。而虫体 FEAA 的含量差异,或由于寄主水稻品种相应的 FEAA 含量差异,或源于不同品种对三化螟消化吸收功能的影响。

2.3 不同水稻品种叶鞘的结构特点和硅化细胞密度

测定表明,同期播种的 9-92 等 10 个水稻品种主茎外叶鞘的维管束平均间距依次降低 (表 3),与三化螟在这些品种中生长发育速率和异步化发育进度的差异相一致;而且,由于同一叶鞘有 10~15 个维管束,其中外叶鞘中小于蚁螟头宽(0.247 mm)的维管束间距率:9-92、CY-6、9325、武育粳 3 号均为 0,而镇稻 2 号、汕优 63、92-109 高达 77.8%~100%,与三化螟在不同寄主水稻中生长发育的差异更为一致。主茎内层叶鞘和分蘖的维管束间距有类似的品种间差异。显然,小于蚁螟头宽的维管束间距比率越高,则蚁螟侵入稻茎取食的机械阻碍愈大。

由于叶鞘的多层次性,鞘脊宽度对初孵蚁螟的 侵入过程具有修饰作用,由表3可见,镇稻2号和 CY-6 的鞘脊较宽,这可能是三化螟对这两个品种水稻侵入存活率低的重要原因,但由于 CY-6 的维管束间距大,因而三化螟对 CY-6 的侵入存活率又显著高于对镇稻 2 号的侵入存活率;另一方面,9-92、9325 和二白矮的鞘脊较狭,三化螟对此 3 个品种的侵入存活率也高。

0.46 C

不同水稻品种叶鞘的表皮硅化细胞密度,以武育粳3号最高,9325最低,其它品种间无显著差异,因而与水稻对三化螟抗性作用的主要机制无关。

2.4 不同水稻品种的氨基酸和糖类含量

三化螟为害 7 天时,9-92、三百粒头、汕优 63、镇稻 2 号、92-109 等稻株中 FEAA 含量相近,为 $0.096 \sim 0.156$ nmol/mg;各品种的还原糖含量以 9-92 最高(8.48 mg/g),汕优 63 最低(1.67 mg/g),三百粒头、镇稻 2 号、92-109 等品种相近。

被害 10 天的稻株 FEAA 含量以武育粳 2 号最高、汕优 63 最低,9-92、92-109、镇稻 2 号等稻株相近;不同品种的必需氨基酸总量差异也不大(P > 0.05);还原糖含量以 9-92 最高,镇稻 2 号最低(表 4)。

上述结果表明,稻株中的游离必需氨基酸、总必需氨基酸、还原糖含量,都与不同品种中三化螟生长发育速率的差异和虫体的游离必需氨基酸含量 无明显相关。

② 数据后有不同的大写字母表示差异极显著(P<0.01)The means followed by different capital letters differ significantly (P<0.01)

表 3 不同水稻品种主茎外叶鞘的维管束间距、鞘脊宽度和表皮硅化细胞密度*

Table 3 Interval between vascular bundles (IVB), ridge width and silica cell density in outer leaf sheath of primary stem in different varieties of rice plants

| 水稻品种 | | 小于蚁螟头宽的维管束间距率(%) | 鞘脊宽度(µm) | 硅化细胞数/100 μm² |
|----------------|----------------------------|------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| Variety | IVB | Rate of IVB < head with of neonate | Ridge width | Silica cell number/ $100\mu m^2$ |
| 9-92 | 370.8 ± 50.7 a | 0 | $67.5 \pm 5.3 \text{ f}$ | 11.8 bc |
| CY-6 | 354.2 ± 47.8 ab | 0 | 98.3 ± 17.4 a | 18.4 b |
| 9325 | $349.2 \pm 43.8 \text{ b}$ | 0 | $66.7 \pm 6.0~\mathrm{f}$ | 9.1 c |
| 9522 | $338.3 \pm 48.1 \text{ b}$ | 11.1 | $84.2 \pm 9.0 \text{ cd}$ | 13.1 be |
| 武育粳3号 | $320.0 \pm 21.9 \text{ b}$ | 0 | 74.2 ± 13.8 e | 24.4 a |
| Wuyujing No. 3 | | | | |
| 三百粒头 | $276.8 \pm 42.8 \text{ c}$ | 37.5 | 91.7 ± 11.1 b | 18.9 b |
| Sanbailitou | | | | |
| 二白矮 | $268.3 \pm 27.5 \text{ c}$ | 20.0 | $64.2 \pm 4.0 \text{ f}$ | 14.2 bc |
| Erbaiai | | | | |
| 92-109 | 237.5 ± 12.4 d | 100.0 | 90.0 ± 15.0 bc | 16.2 bc |
| 汕优 63 | 232.5 ± 34.0 de | 77.8 | 79.2 ± 6.6 de | 11.1 с |
| Shanyou 63 | | | | |
| 镇稻2号 | 216.7 ± 21.4 e | 100.0 | 103.3 ± 19.4 a | 17.1 b |
| Zhendao No. 2 | | | | |

^{*} 所有品种均于4月8日播种,5月7日移栽,5月26日取样测定

All varieties of rice were sown on April 8, transplanted on May 7 and sampled on May 26, 1998

表 4 不同品种稻株被害 10 天后的氨基酸和还原糖含量

Table 4 Contents of FEAA, essential animo acids (EAA) and reductive carbohydrates (RC) in different varieties of rice plants infested by YSB for 10 days

| 品种/品系 | FEAA | 必需氨基酸总量(nmol/mg) | 还原糖 (mg/g) |
|----------------------|-----------|------------------|------------|
| Variety or cultivar | (nmol/mg) | Total of EAA | RC |
| 9-92 | 0.083 | 32.91 | 7.764 |
| 三百粒头 Sanbailitou | 0.105 | 34.34 | 5.748 |
| 武育粳2号 Wuyujing No. 2 | 0.627 | 30.96 | 1.812 |
| 武育粳3号 Wuyujing No. 3 | 0.181 | 29.90 | 3.216 |
| 汕优 63 Shanyou 63 | 0.057 | 36.12 | 4.740 |
| 镇稻 2 号 Zhendao No. 2 | 0.106 | 37.51 | 1.596 |
| 92-109 | 0.072 | 38.74 | 3.288 |

3 讨论

3.1 不同品种水稻对三化螟生长发育的主要调节 机制

三化螟系单食性、本地性害虫,由于亚热带地 区间断的寄主生态条件,三营养级互作集中浓缩为 三化螟-水稻的相互作用。许多研究表明,施氮素 或稻株氮含量较高促进三化螟和二化螟的为害 (Chandramohan et al., 1984; Padhi et al., 1986; Shim, 1965), 而施硅肥及稻株硅含量较高不利于二化螟、稻瘿蚁等为害(Shim, 1965)。杨丽梅等(1985)、周祖铭(1986)研究指出,抗螟品种一般茎壁厚、髓腔和维管束间距小,抗螟品种小青、武复粳等的维管束两侧均有硅化细胞,不利于三化螟和二化螟的侵入,而感螟品种柱朝和 IR29 没有或仅一侧有硅化细胞;且抗螟品种的糖含量高于感螟品种。本研究表明,三化螟在不同水稻品种上的生

长发育和体重的显著差异,与寄主稻株中游离必需 氨基酸、总必需氨基酸、还原糖的含量及叶鞘硅化 细胞密度,均无明显相关。而水稻叶鞘的形态结构 差异,是抗/感性品种对三化螟的主要作用因子。 在水稻生长发育进程中,不同品种和稻株不同部位 之间,叶鞘维管束间距及其与蚁螟头宽的相对大小 是一个动态特征,因而受到肥、旱、渍、温湿度等 环境因素和水稻生长发育阶段的影响。我们的研究 还表明,推迟接虫期或气温上升后发育快的汕优 63 稻株,或连续降雨环境中的稻株,三化螟的侵入存 活率和发育进度都显著提高或加快。

3.2 三化螟对抗性水稻的适应性与抗螟品种的应 用策略

由于抗性品种中维管束间距的分蘖位和叶鞘位差异,蚁螟群体侵入抗性稻株的不同部位后异步化发育(方继朝等,2001),这是三化螟对抗性水稻的群体适应性,以此扩展种群的时间生态位,有利于后代的生存。同时,在维管束间距小的稻株部位或品种中,存活个体生长发育速率的降低,也是对不利环境的个体适应性,由此调节三化螟头宽与维管束间距的比率动态,有利于其后续的生存与发育。施用氮肥及稻株氮含量提高,即可能通过增大叶鞘维管束间距,促进三化螟种群的生长发育。针对三化螟的适应机能,抗螟品种的应用策略,必须结合水稻高产群体质量栽培,培育大田分蘖期早而集中和生长发育较一致的水稻群体,降低群体和单株茎蘖的异质性,增强抗性品种对蚁螟入侵和异步化发育的抵抗性。

参考文献(References)

Chandramohan N. Chelliah S. 1984. Relationship between biochemical characteristics of rice and establishment of yellow stem borer (YSB) lar-

- vae. IRRN, 9: 6~16.
- Chaudhary R C, 1984. Varietal resistance to rice stem borer in Asia. Insect Sci. Appl., 5 (6): 447 ~ 463.
- Fang J C, Du Z W, Cheng X N et al., 2001. Ecological mechanism for population homeostasis of the yellow stem borer, Scippophaga incertulas.

 Acta Entomol. Sin., 44 (3): 337~344. [方继朝, 杜正文,程逻年等,2001. 三化螟种群的内稳定性及其生态机制研究。昆虫学报,44 (3): 337~344]
- Fang J C, Tu C W, 1998. Regularity of and key control strategy for yellow stem borer infestation in the rice production area between Yangtz and Huai Rivers. J. Southwest Agric. Univ., 20 (5): 516~522. [方继朝,夏礼如,杜正文等,1998. 江淮稻区三化螟灾变规律和关键防治技术,西南农业大学学报,20 (5): 516~522]
- Fang J C, Tu C W, Cheng X N, 1998. Increasing harm tendency of rice stem borers and their control strategy in China. *Entomol. Knowledge*, 35 (4): 193~197. [方继朝,杜正文,程遐年,1998. 水稻鎮害上升态势及控害减灾对策分析. 昆虫知识,35 (4): 193~197]
- Padhi G, Chatterji S M, 1986. Influence of nitrogen in rice varieties on the yellow stem borer infestation. J. Entomol. Res., 10: 2, 171 ~ 173.
- Riaz M, 1993. Screening rice varieties and lines for resistance to yellow stem borer based on preference or nonpreference and antibiosis. IRRN, 18: 1 ~26
- Shim J W, 1965. Studies on the varietal resistance to the stem borer, Chilo suppressalis Walker. | . Relation between the resistance and nitrogen and silica contents of host plant. J. Plant Protec., 4: 51 ~ 54.
- Shu Z L, Fang J C, Wang Z Y et al., 1999. A preliminary study on the japonica varieties (lines) resistant to Scippophaga incertulas. Jiangsu Agnic. Res., 20(3): 37~40. [東兆林,方继朝,汪智渊等, 1999. 粳稻品种(系)对三化螟抗性的初步研究. 江苏农业研究, 20(3): 37~40]
- Yang L M, Huang X Q, Shuai Y H et al., 1985. Study on resistance of rice variety Xiao-Qing to yellow stem borer. Sci. Agric. Sin., 5 (5): 58 ~ 62. [杨丽梅,黄秀清,帅应恒等,1985. 水稻品种小青抗三化 螟害研究.中国农业科学,5 (5): 58~62]
- Zhou Z M, 1986. Evaluation on resistant rice varieties to yellow stem borer.

 Hunan Agric. Sci., (3): 19~22. [周祖铭, 1986. 水稻抗三化螟品种鉴定研究. 湖南农业科学, (3): 19~22]